

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 12. 016

论著 • 基础

3,3'-二吡啶甲烷对脂多糖诱导的 H9c2 细胞氧化应激和增殖的影响

胡哲夫, 唐其柱, 吴青青, 冯一洲, 周晨亮



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81700353); 国家重点研发计划项目(2018YFC1311300)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院重症医学科(胡哲夫、周晨亮); 心血管内科/代谢与相关慢病湖北省重点实验室(胡哲夫、唐其柱、吴青青、冯一洲)

通信作者: 唐其柱, E-mail: qztang@whu.edu.cn

【摘要】 目的 观察 3,3'-二吡啶甲烷(DIM)对脂多糖(LPS)诱导 H9c2 细胞增殖及氧化应激的影响。方法 2022 年 10—12 月于武汉大学人民医院代谢与相关慢病湖北省重点实验室进行实验,采用 LPS(10 mg/ml)刺激 H9c2 细胞,并用不同浓度的 DIM [10、20、30 $\mu\text{mol/L}$]进行干预。活细胞计数试剂盒(CCK-8)检测 H9c2 细胞增殖能力;通过检测细胞内活性氧基团(ROS)水平并分析 LPS 对 H9c2 细胞的毒性作用。结果 CCK-8 结果提示, DIM 对 H9c2 细胞活性无显著影响($P > 0.05$), LPS 可提高 H9c2 细胞的增殖活性($P < 0.01$), 当 DIM 与 LPS 同时作用时, 可明显降低 LPS 对 H9c2 细胞增殖活性的提升(LPS + DIM I 组: $F = 7.451, P = 0.002$, LPS + DIM II 组: $F = 8.822, P = 0.001$, LPS + DIM III 组: $F = 10.460, P = 0.001$); LPS 可增加 H9c2 细胞内 ROS 水平($P < 0.05$), 当 DIM 与 LPS 同时作用时, ROS 水平显著降低(LPS + DIM I 组: $F = 27.440, P < 0.001$, LPS + DIM II 组: $F = 14.060, P < 0.001$, LPS + DIM III 组: $F = 18.760, P < 0.001$), 且随着药物浓度增加下降趋势更明显($P < 0.01$)。结论 DIM 可通过抑制 LPS 诱导的 H9c2 细胞氧化应激并改善 H9c2 细胞的增殖活性。

【关键词】 H9c2 细胞; 氧化应激; 增殖; 二吡啶甲烷; 脂多糖**【中图分类号】** R361⁺.2; R542.2**【文献标识码】** A

Effects of 3,3'-diindolymethane on oxidative stress and proliferation of H9c2 cells induced by Lipopolysaccharide

Hu Zhefu, Tang Qizhu, Wu Qingqing, Feng Yizhou, Zhou Chenliang. Department of Intensive Care Unit, RENMIN Hospital of Wuhan University, Hubei Wuhan 430060, RP China; 2. Department of Cardiology, REN MIN Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, RP China; 3. Hubei Key Laboratory of Metabolic and Chronic Diseases, Wuhan 430060, RP China
Corresponding author: TANG Qizhu, Email: qztang@whu.edu.cn

Funding Program: National Natural Science Foundation of China (81700353); National Key R&D Plan (2018YFC1311300)

【Abstract】 Objective To observe the effects of 3,3'-diindolymethane (DIM) on the proliferation and oxidative stress of H9c2 cells induced by Lipopolysaccharide (LPS). **Methods** From October to December 2022, the experiment was carried out in Hubei Key Laboratory of Metabolism and Related Chronic Diseases, People's Hospital of Wuhan University. H9c2 cells were stimulated with LPS (10 mg/ml) and different concentrations of DIM (10, 20, 30 $\mu\text{mol/L}$) for intervention. The live cell counting kit (CCK-8) was used to detect the proliferation ability of H9c2 cells; By detecting intracellular reactive oxygen species (ROS) levels and analyzing the toxic effects of LPS on H9c2 cells. **Results** The CCK-8 results suggest that DIM has no significant effect on the activity of H9c2 cells ($P > 0.05$); LPS can increase the level of ROS in H9c2 cells. When DIM and LPS act simultaneously, ROS levels are significantly reduced (LPS + DIM I group: $F = 27.44, P < 0.001$, LPS + DIM II group: $F = 14.06, P < 0.001$, LPS + DIM III group: $F = 18.76, P < 0.001$); LPS can enhance the proliferation activity of H9c2 cells ($F = 28.62, P < 0.01$), and when DIM and LPS act simultaneously, it can significantly reduce the increase in proliferation activity of H9c2 cells by LPS (LPS + DIM I group: $F = 7.451, P = 0.002$, LPS + DIM II group: $F = 8.822, P = 0.001$, LPS + DIM III group: $F = 10.460, P = 0.001$). **Conclusion** DIM can inhibit LPS induced oxidative stress in H9c2 cells and improve the proliferative activity of H9c2 cells.

【Key words】 Diindolymethane; Lipopolysaccharide; H9c2 cells; Oxidative stress; Proliferation

心肌肥厚及纤维化常伴有成纤维细胞的过度增殖和胶原分子的合成、分泌。炎症反应和氧化应激等一直是心肌纤维化的元凶之一,其机制复杂且涉及多种炎性分子。既往研究表明,脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)具有促炎、促氧化应激等多重作用^[1-2]。崔勤涛等^[3]应用 LPS 刺激引起 H9c2 细胞内发生强烈的氧化应激反应并使活性氧(ROS)显著升高。3,3'-二吡啶甲烷(Diindolylmethane, DIM)属于十字花科植物的天然成分提取物^[4,6],其广泛存在于多种常见的十字花科蔬菜中,如卷心菜、雪里红、诸葛菜等。已有研究表明, DIM 具有抗肿瘤、抗炎、抗增生等多种生理作用^[4-7]。另有研究证实, DIM 可弱化压力负荷及其他机制诱导的心肌肥厚和纤维化反应^[8]。因此本研究拟用 LPS 刺激 H9c2 细胞的增殖,并以 DIM 干预,来观察 DIM 是否对 LPS 诱导的 H9c2 细胞增殖能力及氧化应激产生影响,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) H9c2 细胞(典君生物科技发展有限公司提供);(2) 药品及试剂:3,3'-二吡啶甲烷(上海融禾医药科技发展有限公司,100 mg,纯度>98%)、脂多糖(PEPROTECH 公司)、胰蛋白酶消化液(Gibco 公司)、新生胎牛血清(Gibco 公司)、DMEM/F12 培养基(上海立菲公司)、双抗(Hyclone 公司)、CCK-8 试剂盒(日本同仁化学研究所);(3) 仪器设备:细胞计数仪(Invitrogen 公司,型号 C10227)、流式细胞仪(美国 BD FACScalibur 公司,型号 BD FACScalibur 1)、荧光酶标仪(Synergy HT 公司,型号 Synergy H1)、恒温培养箱(赛默飞公司,型号 Thermo 311)。

1.2 实验方法 2020 年 10—12 月于代谢与相关慢病湖北省重点实验室进行实验。H9c2 细胞培养于 37℃、CO₂ 体积分数为 5% 的恒温培养箱中,采用含有 20% NCS 和 1% 双抗(青霉素+链霉素)的 DMEM/F12 培养基中培养,使用对数生长期的细胞。当 H9c2 细胞的生长密度达到约 80% 后,使用 0.125% 胰酶消化 1 min 左右并以 1:2 的比例传代,每次传代时细胞密度控制在 1×10^5 /ml。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 H9c2 细胞增殖能力:将 H9c2 细胞均匀接种至 96 孔板,每孔 100 μ l,置于温箱培养 24 h 后,将培养基更换为无血清培养基饥饿 24 h,采用不同浓度 DIM(10、20、30 μ mol/L)处理干预后,将培养基换为含有 10 μ l 的 CCK-8 无血清培养基 100 μ l,继续在温箱中孵育 2 h 后置于酶标仪下检测(波长 450 nm)。实验分为 8 组:空白对照组(Control),DIM 10 μ mol/L

(DIM I 组), DIM 20 μ mol/L (DIM II 组), DIM 30 μ mol/L (DIM III 组), LPS 10 mg/ml (LPS 组), LPS 10 mg/ml + DIM 10 μ mol/L (LPS + DIM I 组), LPS 10 mg/ml + DIM 20 μ mol/L (LPS + DIM II 组), LPS 10 mg/ml + DIM 30 μ mol/L (LPS + DIM III 组)。

1.3.2 活性氧(ROS)检测

1.3.2.1 ROS 水平:将 H9c2 细胞均匀地接种至 96 孔板中,每孔 100 μ l,置于温箱继续培养 24 h,细胞密度达到 80% 后将培养基更换为无血清的培养基饥饿 24 h,采用不同浓度 DIM(10、20、30 μ mol/L)处理干预 24 h 后,将 96 孔板中的培养基换为含有 10 μ mol/L 的 DCFH/DA 的培养基继续孵育 20 min,之后将培养基吸出,用 PBS 清洗 3 次,以排除未进入细胞内部的 DCFH/DA 干扰。最后再次加入 PBS 100 μ l,置于酶标仪下检测,激发光波长为 485 nm,发射光波长为 525 nm。ROS 水平(%) = 干预组荧光值/对照组荧光值 \times 100%,本实验重复 3 次。实验分为 5 组:空白对照组(Control), LPS 组(10 mg/ml), LPS 10 mg/ml + DIM 10 μ mol/L (LPS + DIM I 组), LPS 10 mg/ml + DIM 20 μ mol/L (LPS + DIM II 组), LPS 10 mg/ml + DIM 30 μ mol/L (LPS + DIM III 组)。

1.3.2.2 ROS 时间点检测:方法同上,以空白对照组为参照,分别检测各组在 30、60、120 min 后 H9c2 细胞内 ROS 含量变化。实验分为 3 组:空白对照组(Control), LPS 组(10 mg/ml), LPS + DIM 组(LPS 10 mg/ml + DIM 30 μ mol/L)。

1.3.3 炎性指标检测:采用 RT-PCR 检测白介素(IL)-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6、血红素加氧酶-1(HO-1),以不同浓度 DIM(10、20、30 μ mol/L)处理 12 h 后,弃去培养基,以 TRIzol 1 ml 提取细胞内总 RNA,采用紫外分光光度法测定其含量与纯度。取约 5 μ l 总 RNA 逆转录为 cDNA,以 GAPDH 为内参进行 PCR 扩增。细胞内 mRNA 表达 cDNA 第一链的合成参照 PCR 试剂盒进行。GAPDH 的扩增引物均由上海生物工程公司合成。PCR 反应条件为:Cycle 94℃ 2 min, 35 Cycles 94℃ 40 s, 65℃ 40 s, 72℃ 1 min, Cycle 72℃ 5 min。实验分为 4 组:空白对照组(Control), LPS 组(10 mg/ml), LPS + DIM 组(LPS 10 mg/ml + DIM 30 μ mol/L), DIM 组(DIM 30 μ mol/L)。各引物序列见表 1。

1.3.4 蛋白印迹检测:使用细胞裂解液冰上裂解细胞 10 min,收集并提取蛋白。首先校正 GAPDH 后,每组 10 μ l 进行 10% SDS-PAGE 凝胶电泳,后将蛋白以 100 V,90 min 转移至 PVDF 膜上,用一抗封闭液进行

封闭,后用 TBST 洗膜,一抗孵育过夜后加入羊抗兔二抗进行显色反应。使用 Odyssey 图像分析软件检测各组蛋白的相对密度值作为蛋白水平,均以 GAPDH 作为内参。实验分为 6 组:空白对照组(Control),单加 LPS 组(10 mg/ml),低剂量组(LPS 10 mg/ml + DIM 10 μmol/L),中剂量组(LPS 10 mg/ml + DIM 20 μmol/L),高剂量组(LPS 10 mg/ml + DIM 30 μmol/L),单 DIM 组(10 μmol/L)。

表 1 RT-PCR 引物序列

Tab.1 RT PCR primer sequences

基因	引物	序列
IL-1β	上游	5'-CCGTGGACCTTCCAGGATGA-3'
	下游	5'-GGGAACGTCACACACCAGCA-3'
MCP-1	上游	5'-TGCTCAGCCAGATGCACT-3'
	下游	5'-CCAGCCTACTCATTGGGATCA-3'
TNF-α	上游	5'-CATCTTCTCAAAACTCGAGTGACAA-3'
	下游	5'-TGGGAGTAGATAAGGTACAGCCC-3'
IL-6	上游	5'-CTGCAAGAGACTTCCATCCAG-3'
	下游	5'-AGTGGTATAGACAGGTCTGTGG-3'
HO-1	上游	5'-CAGGATCCAAGTTCAAACAGCTCTATCG-3'
	下游	5'-CTGTCACCCTGTGCTTGAC-3'
GAPDH	上游	5'-GTCAAGGCTGAGAACGGGAA-3'
	下游	5'-TGGACTCCACGACCTACTCA-3'

1.4 统计学方法 应用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,组间两两均数比较采用 S-N-K 法(方差齐)或 Dunnett's T3(方差不齐)检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 H9c2 细胞增殖能力比较 与未加任何处理因素的空白对照组比较,3 组(DIM I、II、III 组)单加不同浓度梯度(10 ~ 30 μmol/L) 的 DIM 培养 H9c2 细胞 24 h 后,其增殖活性比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但 LPS (10 mg/ml) 可使细胞增殖活性明显增加($P < 0.01$),而 DIM 在 10 ~ 30 μmol/L 浓度范围内可显著弱化上述现象($P < 0.01$),且呈现浓度依赖性,见表 2。

2.2 H9c2 细胞内 ROS 水平比较 与空白对照组比较,LPS 刺激 H9c2 细胞 2 h 后,H9c2 细胞内 ROS 含量明显上升($P < 0.05$);与 LPS 组比较,加入 10 ~ 30 μmol/L 的 DIM 后 H9c2 细胞内 ROS 含量下降,随着药物浓度的增加下降趋势更明显($P < 0.01$),见表 3。

2.3 不同时间 DIM 干预 H9c2 细胞内 ROS 水平的比较 与空白对照组比较,加入 LPS 30 min 后 H9c2 细胞内 ROS 含量开始上升,120 min 后更明显($P <$

0.05);加入 DIM(30 μmol/L) 后,ROS 均有不同程度的降低,随 DIM 作用时间增加细胞增殖活性减低,且差异均有统计学意义(P 均 < 0.05),见表 4。

表 2 不同浓度梯度 DIM 对 H9c2 细胞增殖能力的影响 ($\bar{x} \pm s, %$)

Tab.2 Effect of Different Concentration Gradient DIM on Cell Proliferation Ability

组别	n	细胞存活率
空白对照组	6	100.00 ± 6.14
DIM I 组	6	104.29 ± 3.56
DIM II 组	6	95.47 ± 5.27
DIM III 组	6	100.33 ± 2.62
LPS 组	6	121.65 ± 2.59 ^a
LPS + DIM I 组	6	102.61 ± 3.30 ^b
LPS + DIM II 组	6	99.73 ± 5.83 ^b
LPS + DIM III 组	6	99.24 ± 3.28 ^b

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.01$;与 LPS 组比较,^b $P < 0.05$ 。

表 3 不同浓度 DIM 刺激对 H9c2 细胞 ROS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, %$)

Tab.3 Effects of Different Concentrations of DIM Stimulation on Cell ROS Levels

组别	n	ROS 含量
空白对照组	6	100.00 ± 3.41
LPS 组	6	229.88 ± 6.25 ^a
LPS + DIM I 组	6	192.12 ± 5.65 ^b
LPS + DIM II 组	6	174.07 ± 3.70 ^c
LPS + DIM III 组	6	142.53 ± 10.13 ^d

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与 LPS 组比较,^b $P < 0.05$;与 LPS + DIM I 组比较,^c $P < 0.05$;与 LPS + DIM II 组比较,^d $P < 0.05$ 。

表 4 LPS 与 DIM 刺激 H9c2 细胞不同时间点的 ROS 水平比较 ($\bar{x} \pm s, %$)

Tab.4 Comparison of ROS levels in H9c2 cells stimulated by LPS and DIM at different time points

组别	时间(min)	ROS 含量(%)
空白对照组(n = 6)	30	100.00 ± 4.40
	60	235.09 ± 10.21 ^a
	120	244.02 ± 10.96 ^a
LPS 组(n = 6)	30	277.89 ± 10.42 ^a
	60	201.01 ± 6.06 ^b
	120	196.55 ± 6.70 ^b
LPS + DIM(n = 6)	30	177.48 ± 3.79 ^b
	60	
	120	

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与 LPS 组同时点比较,^b $P < 0.05$ 。

2.4 DIM 对 H9c2 胞内相关炎性因子水平的影响 与空白对照组比较,加入 LPS 刺激后,H9c2 细胞内 IL-1β、IL-6、MCP-1、TNF-α、HO-1 含量显著上升($t/P = 73.960 / < 0.001, 31.480 / < 0.001, 17.140 / 0.001,$

6.487/0.001、14.270/0.001), 加入 DIM(30 μmol/L) 后, 上述指标均有不同程度的降低 ($t/P = 9.783 / <0.001, 3.541 / <0.008, 4.609 / 0.002, 7.620 / <0.001, 3.705 / 0.006$), 而单加 DIM 则无显著改变 ($P > 0.05$), 见表 5。

2.5 DIM 抑制 H9c2 发生炎症反应的机制 LPS 可显著上调 H9c2 细胞内 p-ERK、p-JNK、p-P38 的表达量, 与空白对照组比较差异有统计学意义 (P 均 < 0.001); 而当 DIM(10、20、30 μmol/L) 和 LPS 共同刺激 HUVEC 24 h 之后, p-ERK、p-JNK、p-P38 表现为下调趋势, 且趋势随着 DIM 的浓度升高, 蛋白密度下调越明显, 与 LPS 组比较, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.001)。而单加 DIM(30 μmol/L) 则对 p-ERK、p-JNK、p-P38 的表达无显著影响 (P 均 > 0.05), 见图 1。

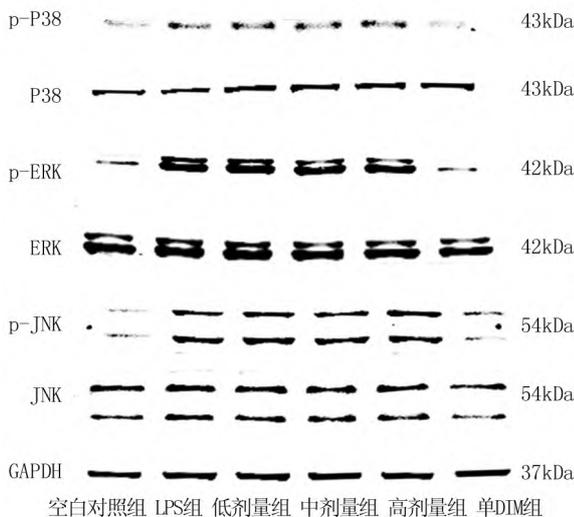


图 1 各组 H9c2 细胞内 p-ERK、p-JNK、p-P38 的表达比较
Fig. 1 Expression of p-ERK, p-JNK, and p-P38 in H9c2 cells of each group

3 讨论

本结果表明, H9c2 细胞在经典促炎介质 LPS 的作用下可显著增殖并发生细胞活性的变化, 而 DIM 与

LPS 同时作用于 H9c2 细胞时, 可有效抑制 LPS 诱导的 H9c2 细胞增殖、氧化反应及炎症反应, 且呈现明显的浓度依赖性。另一方面, RT-PCR 结果也证实 DIM 可以减少相关炎症因子如 IL-1β、IL-6、TNF-α 等表达水平, 蛋白印迹试验也表明 DIM 可对抗 LPS 的促炎作用并降低 p-ERK、p-JNK、p-P38 的蛋白表达水平。通过该试验, 证实了 DIM 在 LPS 诱导的 H9c2 细胞氧化应激和增殖中发挥了重要的改善作用。

Zong 等^[8] 早期就通过动物模型证实 DIM 可有效改善心脏肥厚, 奠定了 DIM 治疗心血管疾病的相关靶基础研究, 本研究则从细胞层面证实了其抗增殖及炎症反应作用。近年来, DIM 在许多领域已被证实具有抗炎甚至抑制肿瘤细胞生长等多种效果^[5-7], 而且对某些组织的氧化反应具有一定程度的抑制作用。氧化/抗氧化失衡一直是引起细胞内氧化应激损伤的重要原因之一^[9-13], 大量产生的 ROS 如超氧阴离子($\cdot O_2^-$)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基($\cdot OH$)等, 均可破坏机体内重要的分子如核酸及蛋白质的正常结构及功能, 从而引起重要化学反应的进行。LPS 作为经典的促炎因素之一可通过促炎、促氧化应激等途径引起多种细胞内 ROS 的活化^[14], 而过度产生的 ROS 能够破坏细胞内的谷胱甘肽、过氧化物酶等抗氧化物的水平, 进一步降低组织器官抗氧化损伤的能力。

既往研究表明^[15], LPS 可在心肌细胞中激活 TLRs 从而激活 NF-κB 信号通路而引起炎症反应爆发, 而被激活的 NF-κB 因子可进一步促进下游的 IL-1β、IL-6、TNF-α 等炎症因子的分泌从而形成恶性循环。IL-6 一直被视为脓毒症和炎症反应的经典标志物, 其升高具有典型的代表性意义, 可作为细胞内炎症反应程度的重要标志分子。Zhou 等^[16] 研究团队的一项成果表明, DIM 亦通过调节 NF-κB/TGF-β/Smad 信号通路减轻放射性肺损伤中的炎症反应和纤维化, 而该信号通路也是心脏组织发生上皮间质转化的典型通路之一, 表明 DIM 在抑制心肌纤维化等领域可能具有一定的潜在研究价值。而 DIM 在早期已被证实具有良好的

表 5 不同浓度 DIM 刺激对细胞各炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 5 Influence of different concentrations of DIM stimulation on the levels of inflammatory factors in cells

组别	n	IL-1β	IL-6	MCP-1	TNF-α	HO-1
空白对照组	6	100.00 ± 11.10	100.00 ± 2.20	100.00 ± 1.70	100.00 ± 1.30	100.00 ± 9.00
LPS 组	6	156.00 ± 10.00 ^a	194.00 ± 3.20 ^a	143.00 ± 3.20 ^a	193.00 ± 3.40 ^a	140.00 ± 2.50 ^a
LPS + DIM 组	6	128.00 ± 5.00 ^b	144.00 ± 8.30 ^b	97.00 ± 1.80 ^b	128.00 ± 2.50 ^b	114.00 ± 1.60 ^b
DIM 组	6	102.00 ± 7.00 ^c	103.00 ± 8.40 ^c	95.00 ± 2.00 ^c	102.00 ± 2.00 ^c	100.00 ± 5.00 ^c

注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 LPS 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 LPS + DIM 组比较, ^c $P < 0.05$ 。

抗炎作用,其可弱化 LPS 的促炎效果进而降低上述炎性因子的表达水平。氧化应激是炎性损伤的基本病理过程,伴随大量的炎性因子释放和活性氧产生。本研究显示,DIM 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞具有保护作用,可抵抗氧化应激。但已有相关研究证明^[17-18],MAPK 信号通路在各种原因导致的氧化应激及炎性损伤中发挥重要调控作用。本研究结果显示,与空白对照组比较,LPS 干预后,P38、JNK、ERK 蛋白磷酸化水平增加,而 DIM 可显著降低 P38、ERK、JNK 蛋白的磷酸化水平,表明 DIM 可能通过抑制 MAPK 信号通路关键蛋白的活化而起到对 H9c2 细胞氧化应激及炎性损伤的保护效应,而且呈现出浓度依赖性。

综上所述,DIM 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞增殖和氧化反应具有一定程度的抑制作用,有力地说明了 DIM 对心肌组织的潜在保护作用,另一方面,DIM 可通过抑制相关炎性因子的产生从而发挥抗炎作用,为 DIM 将来的临床应用提供了基础实验依据。通过本实验进一步巩固了 DIM 治疗炎性反应和脓毒症相关疾病的治疗地位,但本次实验属于细胞水平,未进行在体研究,心肌纤维化的其他标志物也尚未检测,因此存在一定的局限性,DIM 其他的多重机制仍需要进一步研究,今后需进一步完善深入的机制研究,为 DIM 防治心血管及其他相关疾病提供更广阔的前景。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

胡哲夫: 课题设计, 论文撰写; 唐其柱: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 吴青青: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 周晨亮: 实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改; 冯一洲: 进行统计学分析

参考文献

- [1] Cai S, Zhao M, Zhou B, et al. Mitochondrial dysfunction in macrophages promotes inflammation and suppresses repair after myocardial infarction [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133 (4): e159498. DOI: 10.1172/JCI159498.
- [2] Xia Y, Zhang W, He K, et al. Hydrogen sulfide alleviates lipopolysaccharide-induced myocardial injury through TLR4-NLRP3 pathway [J]. *Physiol Res*, 2023, 72 (1): 15-25. DOI: 10.33549/physiolres.934928.
- [3] 崔勤涛, 王俊华, 刘晓晨. 丹酚酸 A 激活 AKT/mTOR/4EBP1 通路缓解脂多糖诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡和氧化应激 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2020, 34 (1): 16-23. DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2020.01.003.
- [4] Ye Y, Li X, Feng G, et al. 3,3'-Diindolylmethane induces ferroptosis by BAP1-IP3R axis in BGC-823 gastric cancer cells [J]. *Anticancer Drugs*, 2022, 33 (4): 362-370. DOI: 10.1097/CAD.0000000000001270.
- [5] Wang D, Neupane P, Ragnarsson L, et al. Diindolylmethane Derivatives: New selective blockers for T-type calcium channels [J]. *Membranes (Basel)*, 2022, 12 (8): 749. DOI: 10.3390/membranes12080749.

- [6] Reyes-Hernández OD, Figueroa-González G, Quintas-Granados LI, et al. 3,3'-Diindolylmethane and indole-3-carbinol: potential therapeutic molecules for cancer chemoprevention and treatment via regulating cellular signaling pathways [J]. *Cancer Cell Int*, 2023, 23 (1): 180. DOI: 10.1186/s12935-023-03031-4.
- [7] Tucci P, Brown I, Bewick GS, et al. The plant derived 3,3'-Diindolylmethane (DIM) behaves as CB2 receptor agonist in prostate cancer cellular models [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (4): 3620. DOI: 10.3390/ijms24043620.
- [8] Zong J, Deng W, Zhou H, et al. 3,3'-Diindolylmethane protects against cardiac hypertrophy via 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase- α 2 [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (1): e53427. DOI: 10.1371/journal.pone.0053427.
- [9] Hsu NY, Nayar S, Gettler K, et al. NOX1 is essential for TNF α -induced intestinal epithelial ROS secretion and inhibits M cell signatures [J]. *Gut*, 2023, 72 (4): 654-662. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-326305.
- [10] Shaito A, Aramouni K, Assaf R, et al. Oxidative stress-induced endothelial dysfunction in cardiovascular diseases [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2022, 27 (3): 105. DOI: 10.31083/j.fbl2703105.
- [11] Cai S, Zhao M, Zhou B, et al. Mitochondrial dysfunction in macrophages promotes inflammation and suppresses repair after myocardial infarction [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133 (4): e159498. DOI: 10.1172/JCI159498.
- [12] Zeng X, Zhang YD, Ma RY, et al. Activated Drp1 regulates p62-mediated autophagic flux and aggravates inflammation in cerebral ischemia-reperfusion via the ROS-RIP1/RIP3-exosome axis [J]. *Mil Med Res*, 2022, 9 (1): 25. DOI: 10.1186/s40779-022-00383-2.
- [13] Patone M, Mei XW, Handunnetthi L, et al. Risks of myocarditis, pericarditis, and cardiac arrhythmias associated with COVID-19 vaccination or SARS-CoV-2 infection [J]. *Nat Med*, 2022, 28 (2): 410-422. DOI: 10.1038/s41591-021-01630-0.
- [14] Barigela A, Bhukya B. Probiotic *Pediococcus acidilactici* strain from tomato pickle displays anti-cancer activity and alleviates gut inflammation in-vitro [J]. *3 Biotech*, 2021, 11 (1): 23. DOI: 10.1007/s13205-020-02570-1.
- [15] Zhang X, Feng T, Zhou X, et al. Inactivation of TMEM106A promotes lipopolysaccharide-induced inflammation via the MAPK and NF- κ B signaling pathways in macrophages [J]. *Clin Exp Immunol*, 2021, 203 (1): 125-136. DOI: 10.1111/cei.13528.
- [16] Zhou X, Bao WA, Zhu X, et al. 3,3'-Diindolylmethane attenuates inflammation and fibrosis in radiation-induced lung injury by regulating NF- κ B/TGF- β /Smad signaling pathways [J]. *Exp Lung Res*, 2022, 48 (3): 103-113. DOI: 10.1080/01902148.2022.2052208.
- [17] 沈钦华, 李素娟, 董苏, 等. 紫萘素对肺结核大鼠肺部炎症及 MAPK/NF- κ B 信号通路的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43 (7): 1689-1694. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2023.07.041.
- [18] 田芳, 王鹏, 孙萍, 等. 四逆汤对慢性肾功能衰竭大鼠尿酸水平及 p38MAPK/ERK1/2 信号通路的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2021, 20 (12): 1257-1262. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.12.016.

(收稿日期: 2023-04-01)